

# Optimasi Komposisi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada Yogurt Terfortifikasi Buah Lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin) sebagai Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

*By Ika Ristia Rahman*

## Optimasi Komposisi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada Yogurt Terfortifikasi Buah Lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin) sebagai Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

### Optimization of Composition of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in Yoghurt Fortified by Lakum Fruit (*Cayratia trifolia* (L.) Domin) as an Antibacterial Against *Escherichia coli*

**37** Ristia Rahman, Nurkhasanah\*, Ika Kumalasari

Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

#### ABSTRAK

Optimasi komposisi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada yogurt terfortifikasi buah lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin) sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* telah dilakukan. Yogurt dibuat dengan memfermentasikan susu bubuk *full cream* dengan penambahan variasi kultur bakteri *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*, serta penambahan ekstrak buah lakum. Proses fermentasi sangat bergantung pada kultur bakteri yang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi optimal bakteri *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* pada yogurt terfortifikasi buah lakum sebagai antibakteri pada *E. coli*. Penelitian dilakukan dengan cara memvariasikan komposisi bakteri *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* pada yogurt buah lakum. Analisis terhadap yogurt buah lakum dilakukan dengan peng-29n stabilitas keasaman, pH, kadar antosianin dan aktivitas daya hambat terhadap bakteri *E. coli*. Analisis data dilakukan dengan menggunakan MANOVA (*Multivariate Analysis of Variance*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa yogurt buah lakum dengan kombinasi *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* 2:1 (v/v) memberikan stabilitas yang baik selama penyimpanan dengan nilai keasaman yang meningkat dan pH yang turun. Kadar antosianin dalam yogurt selama penyimpanan mengalami penurunan dan yogurt *plain* (tanpa-28nambahan ekstrak buah lakum) dengan kombinasi *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* 2:1 (v/v) memiliki daya hambat terhadap bakteri *E. coli* dengan nilai yang paling tinggi.

**Kata kunci:** optimasi; yogurt; *Cayratia trifolia* L; *Lactobacillus bulgaricus*; *Streptococcus thermophilus*; antibakteri; *E. coli*

#### ABSTRACT

Optimization of composition of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in yoghurt fortified by lakum fruit (*Cayratia trifolia* (L.) Domin) extract as an antibacterial against *Escherichia coli* was investigated for the first time in this research. Yoghurt was made by fermenting milk with several compositions of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* as starter cultures and also adding lakum fruit extract a-27n antibacterial against *E. coli*. The fermentation process was depended on the bacterial culture used. The aim of the research was to determine the optimal composition of *L. Bulgaricus* and *S. thermophilus* bacteria in lakum fruit yoghurt as an antibacterial against *E. coli*. The research was done by making variation of composition of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* bacteria culture in lakum fruit yoghurt. Lakum fruit yoghurt was analysed with acidity stabil-32est, pH, anthocyanin level and inhibitory activity against *E. coli*. The data analysis was done with MANOVA (*Multivariate Analysis of Variance*). The results showed that lakum fruit yoghurt with composition of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* 2:1 (v/v) had a good stability with increased acidity dan decreased pH. The value of anthocyanin in lakum fruit yogurt decreased and plain yoghurt (without lakum fruit extract) with composition of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* 2:1 (v/v) gave the highest inhibitory value against *E. coli*.

**Keyword:** optimization; yoghurt; *Cayratia trifolia* L; *Lactobacillus bulgaricus*; *Streptococcus thermophilus*; antibacteria; *E. coli*

\*corresponding author:

email: nurkhasanah@pharm.uad.ac.id

## PENDAHULUAN

Menurut BPOM (2005), pangan fungsional adalah pangan olahan yang memiliki kandungan komponen-komponen fungsional yang secara ilmiah memiliki fungsi fisiologis, aman dan memiliki manfaat bagi kesehatan. Salah satu produk pangan fungsional adalah probiotik yang memiliki manfaat membantu mereduksi penyakit *intestine* (usus), mencegah diare pada anak yang terserang virus, mencegah infeksi bakteri dan khamir, serta meningkatkan fungsi sistem kekebalan dan mereduksi gejala alergi (Winarno & Winarno, 2017). Yogurt merupakan pangan fungsional probiotik karena mengandung sejumlah bakteri hidup yang menguntungkan bagi kesehatan pencernaan dan merupakan pengembangan produk susu fermentasi yang berperan terhadap kesehatan manusia. Proses terjadinya fermentasi susu menjadi yogurt dibantu oleh bakteri asam laktat yang akan membentuk tekstur yang halus dan semi padat, serta membentuk rasa khas asam yang segar. Karakteristik bakteri yang digunakan pada pembuatan yogurt adalah bakteri penghasil asam laktat seperti *Lactobacilli*, *Bifidobacteria* dan *Streptococcus thermophilus* (Trachoo, 2002).

Kombinasi kultur *starter* yang bi<sup>16</sup> digunakan dalam pembuatan yogurt di antaranya adalah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Kedua bakteri tersebut dapat tumbuh bersama-sama secara simbiosis dan akan menghasilkan asam lebih banyak dari pada digun<sup>16</sup> hanya salah satu saja. Kombinasi kultur *starter* *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* digunakan karena kedua bakteri tersebut dapat saling mendukung pertumbuhan. *Lactobacillus bulgaricus* membantu memperpanjang fase<sup>2</sup> garitmik *Streptococcus thermophilus* dengan cara membebaskan peptida-peptida dari kasein susu yang merupakan perangsang untuk pertumbuhan *Streptococcus thermophilus* (Mitchel & Sandine, 1984). Pemecahan laktosa menjadi asam laktat dan asam format yang dihasilkan oleh *Streptococcus thermophilus* menurunkan pH dan membuat suasana menjadi asam sehingga *Lactobacillus bulgaricus* dapat tumbuh dengan baik (Helferich & Westhoff, 1980). Kombinasi komposisi dua *starter* tersebut harus dioptimalkan sehingga diperoleh yogurt dengan mutu yang sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) dan diterima oleh konsumen dari segi tampilan, bau dan rasa.

Pada pembuatannya, yogurt diberi bahan tambahan, seperti buah-buahan, untuk memperbaiki warna dan menambah aktivitas. Salah satu buah yang memiliki fungsi sebagai pewarna dan memiliki aktivitas antibakteri adalah lakum. Lakum (*Cayratia trifolia* (L). Domin) termasuk ke dalam famili vitaceae, seperti anggur biru (*Vitis vinivera*). Penelitian Sowmya et al (2015)

menunjukkan bahwa ekstrak air buah lakum mengandung metabolit sekunder yang salah satunya adalah flavonoid. Senyawa yang banyak terdapat dalam flavonoid adalah antosianin. Antosianin memiliki aktivitas biologi seperti antiinflamasi, antioksidan, antikanker, dan antibakteri (Kumar et al., 2012). Menurut Neliyanti dan Idiawati (2014), ekstrak air buah lakum mengandung pigmen warna golongan antosian<sup>36</sup> ang stabilitasnya baik pada pH asam (pH 1 dan 2). Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan stabilitas antosianin buah lakum dalam produk yogurt yang memiliki nilai pH yang cenderung asam 4-4,5 (Buckle et al., 2007). Pada pembuatan yogurt, komposisi bakteri yang berperan dalam proses fermentasi akan berdampak pada mutu yogurt. Berdasarkan hal tersebut, tujuan penelitian<sup>8</sup> adalah untuk mengetahui komposisi optimal bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada yogurt yang difortifikasi buah lakum sehingga mendapatkan yogurt dengan mutu yang sesuai<sup>12</sup> gan SNI dan memiliki daya antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

## METODOLOGI

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometri UV-Visible type 1700 (Shimadzu\*, Jepang), autoklaf (Hirayama\*, Jerman), oven (Mettmert\*, Jerman), *laminar air flow* (Haier\*, Cina), inkubator (Mettmert\*, Jerman) dan pH meter. Bahan dalam penelitian ini adalah ekstrak buah lakum (*Cayratia trifolia* (L) Domin) yang diperoleh dari Kecamatan Pematang Tujuh, Kabupaten Kubu Raya, Kalimantan Barat, susu bub<sup>1</sup> *full cream plain*, biakan *Streptococcus thermophilus* (Fakultas Teknologi Pertanian, UGM), *Lactobacillus bulgaricus* (Fakultas Teknologi Pertanian, UGM) dan *Escherichia coli* (Fakultas Farmasi, UAD).

### Pembuatan Starter Bakteri

Susu<sup>17</sup> *full cream* 1,5 g dilarutkan dalam 10 mL air, dipasteurisasi pada suhu 85 °C selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu 40 °C. 1 ose kultur hasil pembiakan dari media MRSB (*deMan, Rogosa and Sharpe Broth*) d<sup>5</sup> okulasikan pada susu yang sudah dipasteurisasi, lalu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C. Masing-masing bakteri *starter* dipindahkan ke dalam 100 mL susu yang telah dipasteurisasi pada suhu 85 °C selama 10 menit dan kembali diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Masing-masing kultur *starter* siap digunakan.

### Pembuatan Ekstrak Lakum

Buah lakum sebanyak 200 gram ditimbang, ditambahkan 200 mL aquadest, lalu dihaluskan dengan blender (perbandingan 1:1). Proses ekstraksi dengan pemanasan suhu 70 °C selama 120 menit, lalu ekstrak disaring (Neliyanti, 2014).



Tabel 1. Formula pembuatan yogurt

	Formulasi yogurt 100 mL					
	Y.Plain 1:1	Y.Plain 1:2	Y.Plain 2:1	Y.Lakum 1:1	Y.Lakum 1:2	Y.Lakum 2:1
Susu bubuk <i>full cream</i> (13% b/v)	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL
<i>Starter</i> LB : ST (5% v/v)	1:1	1:2	2:1	1:1	1:2	2:1
Ekstrak buah lakum 100%	0	0	0	7.5 mL	7.5 mL	7.5 mL

Keterangan: LB : *Lactobacillus bulgaricus*  
ST : *Streptococcus thermophilus*

### Pembuatan Yogurt

Yogurt dibuat dengan 6 jenis formula. Masing-masing formula dengan volume 100 mL dapat dilihat pada Tabel 1. Proses pembuatan yogurt adalah sebagai berikut. Susu bubuk *full cream*, yang telah dipasteurisasi pada suhu 85 °C selama 10 menit, diturunkan suhunya sampai 40 °C. Kemudian, susu diinokulasikan dengan *starter*, yang dibuat sebelumnya, sebanyak 5% v/v. Setelah itu, campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 jam. Selanjutnya, ekstrak buah lakum ditambahkan dan diaduk sampai homogen, lalu yogurt disimpan dalam *refrigerator* pada suhu 5 °C.

### Pengujian pH

Pengujian pH dilakukan menggunakan pH meter. Sebelum pengukuran, pH meter harus dikalibrasi terlebih dahulu dengan larutan *buffer* pH 7 dan 10. Ujung elektroda dari pH meter dicelupkan pada sampel yogurt. Nilai pH sampel yogurt tersebut akan ditunjukkan di layar pH meter (AOAC, 2000).

### Analisis Keasaman

Pada pengujian asam tertitrisasi, jumlah asam dihitung sebagai asam laktat. Pengujian menggunakan NaOH 0,1 N sebagai titran dengan titik akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi merah muda. Keasaman produk yogurt dinyatakan dalam persen yaitu antara 0,5-2% (SNI, 2009).

Ket : 15 = Bobot sampel

V = Volume larutan NaOH

N = Normalitas larutan NaOH

90 = BM (bobot molekul) asam laktat

$$\text{Jumlah Asam (\%)} = \frac{V \times N \times 90}{W} \times 100\%$$

### Pengujian Total Antosianin Ekstrak Lakum

Pengujian total antosianin ekstrak menggunakan metode pH *differential*. Sebanyak 20 gram yogurt disentrifugasi selama 45 menit, lalu supernatan diambil. Sebanyak

25 mg supernatan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian ditambahkan larutan *buffer* kalium klorida (0,025 M) pH 1 sampai volume menjadi 25 mL. Sebanyak 25 mg supernatan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL yang lain, kemudian ditambahkan larutan *buffer* natrium asetat (Sigma Aldrich) (0,4 M) pH 4,5 sampai volume menjadi 25 mL. Kedua labu tersebut kemudian ditempatkan di tempat gelap selama 60 menit. Penyerapan sinar dari setiap larutan setelah mencapai kesetimbangan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 700 nm dengan blanko air terdestilasi. Konsentrasi antosianin monomeric dinyatakan sebagai mg CyE (*cyanidin-3-glucoside equivalent*) per gram bahan kering sampel. Selanjutnya, antosianin monomeric (CyE) dihitung dengan menggunakan persamaan (1) dan (2) (Jie et al., 2013). Monomer antosianin dihitung dan dinyatakan sebagai ekuivalen sianidin-3-glukosida (CyE, C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>O<sub>11</sub>, mg/L). Ket :

A = Nilai absorbansi atau serapan

A<sub>λvismax</sub> = Absorbansi pada panjang gelombang maksimum

$$A = (A_{\lambda\text{vismax}} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{\lambda\text{vismax}} - A_{700})_{\text{pH } 4.5} \quad (1)$$

$$\text{Antosianin monomeric (CyE, } \frac{\text{mg}}{\text{L}}) = \frac{A \times \text{BM} \times \text{FP} \times 1000}{\varepsilon \times 1} \quad (2)$$

A<sub>700</sub> = Absorbansi pada panjang gelombang 700 nm

BM = Bobot molekul antosianin (449,2 Da)

FP = Faktor pengenceran

ε = Absorbansi molar *cyanidin-3-glucoside* (26900)

### Pengujian Daya Hambat

Kultur *E. coli* dibuat dalam suspensi media pengencer BPW (*Buffer Peptone Water*) 1%. Sebanyak 1 mL suspensi *E. coli* diinokulasikan ke dalam 15-20 mL media *Mueller Hinton Blood Agar* (MH) ke dalam petri. Setelah disuspensikan, sebanyak 6 sumuran dibuat dengan diameter 5 mm. Sumuran yang telah dibuat diisi dengan 6 formula yogurt sebanyak 0,5 mL dan

dibiarkan meresap selama  $\pm 30$  menit. Selanjutnya media diinkubasi dengan suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Amati terjadinya daerah bening di sekitar sumuran sebagai daerah hambat yang diberikan oleh yogurt (Susanti et al., 2007).

#### Analisis Data

Penelitian ini merupakan penelitian berjenis eksperimental dengan 3 kali pengulangan. Perlakuan yang bertujuan untuk mencari komposisi optimal dari kombinasi bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada fermentasi yogurt yang terfortifikasi buah lakum tersebut didasarkan pada standar mutu SNI produk yogurt, keasaman, pH, kadar antosianin dan aktivitas daya hambat pada *Escherichia coli*. Analisis data menggunakan MANOVA (Multivariate Analysis of Variance) dengan taraf signifikansi 95%.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Yogurt dibuat dengan menggunakan susu bubuk full cream yang dipasteurisasi dan diberikan perlakuan variasi komposisi bakteri *L. Bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* (1:1, 1:2 dan 2:1), serta dengan penambahan ekstrak lakum. Formula yogurt dapat dilihat pada Tabel 1. Yogurt dibuat dengan memfermentasi susu pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 18 jam. Buah lakum yang digunakan pada penelitian ini dan contoh produk yogurt dengan komposisi bakteri *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* 2:1 masing-masing dapat dilihat di Gambar 1 dan 2. Ekstrak lakum dibuat dengan menghaluskan buah lakum dan dipanaskan pada suhu  $70^\circ\text{C}$  selama 120 menit dan didapat ekstrak sebanyak 237,61 gram. Ekstrak lakum berbentuk cair dan berwarna merah keunguan.

#### Nilai pH

Proses fermentasi yang terjadi pada yogurt adalah perubahan komponen susu menjadi metabolit akhir yaitu terbentuknya asam laktat, yang menyebabkan naiknya nilai keasaman dan terjadi penurunan pH yogurt, yang dapat dilihat pada parameter penurunan pH. Menurut Buckle et al (2007), pH yogurt berada di sekitar 4,0-4,5.



Gambar 1. Buah lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin)

Nilai pH yogurt yang dihasilkan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2. Pada hari ke-0, pH berkisar antara 3,65-4,02. Pada hari ke-28, pH yogurt berkisar antara 3,53-4,83. Terdapat perbedaan yang signifikan antara variasi komposisi bakteri terhadap pH ( $p < 0,05$ ). Pada yogurt dengan perbandingan kombinasi *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* 2:1, pH yogurt mengalami penurunan sampai hari ke-14 dan mulai terlihat kenaikan pH pada hari ke-21. Penurunan pH dapat disebabkan banyaknya *L. bulgaricus* yang terdapat di yogurt. *L. bulgaricus* memetabolisme laktosa menjadi asam laktat. Asam laktat ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3$ ) mudah terdisosiasi menjadi ion  $\text{H}^+$  dan  $\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$ . Faktor lain yang mempengaruhi penurunan pH selama penyimpanan adalah karena adanya penambahan ekstrak lakum. Kandungan laktosa dari ekstrak lakum akan diubah oleh *L. bulgaricus* menjadi asam laktat yang berakibat dengan turunnya nilai pH yogurt (Umela, 2017). Pada penyimpanan yogurt hari ke-28, terjadi kenaikan nilai pH yang disebabkan adanya basa alami aktivitas proteolitik yang terjadi dalam yogurt (Chandan, 2014).

#### Total Asam

Keasaman atau total asam tertitrisasi adalah jumlah asam yang dihitung sebagai asam laktat. Parameter keasaman umumnya berbanding terbalik dengan pH. Meningkatnya nilai asam terjadi seiring dengan menurunnya nilai pH. Keasaman pada produk yogurt dinyatakan dalam persen yaitu antara 0,5-2% (SNI, 2009). Keasaman yogurt yang dibuat pada penelitian ini telah sesuai dengan standar SNI yaitu 0,7- 0,8%. Dari Tabel 3, dapat dilihat bahwa variasi komposisi bakteri berpengaruh secara signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap keasaman. Pada yogurt tanpa ekstrak, kadar keasaman paling tinggi ada pada komposisi *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* 2:1. Hal ini karena sifat bakteri yang homofermentatif pada proses fermentasi akan menghasilkan asam laktat yang mempengaruhi penurunan pH sehingga menyebabkan peningkatan keasaman pada yogurt (Umela, 2017). Asam laktat ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3$ ) mudah terdisosiasi menjadi ion  $\text{H}^+$  dan  $\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$ . Pengukuran dengan pH meter hanya untuk mengetahui jumlah asam terdisosiasi. Sedangkan pada nilai keasaman, nilai yang terukur adalah semua komponen asam, baik yang terdisosiasi maupun yang tidak (Sah et al., 2016). Peningkatan keasaman juga terjadi pada yogurt dengan tambahan ekstrak buah lakum. Hal ini karena dengan adanya ekstrak yang mengandung laktosa, maka bakteri asam laktat juga akan mengubah laktosa menjadi asam laktat yang meningkatkan keasaman. Hasil ini sejalan dengan penelitian Jung et al (2016) yang menyatakan bahwa dengan penambahan ekstrak, maka keasaman yogurt akan meningkat. Lamanya penyimpanan juga berpengaruh signifikan terhadap keasaman karena selama penyimpanan masih terjadi proses fermentasi meskipun lambat sehingga viabilitas BAL (bakteri asam





Gambar 2. Yogurt dengan perbandingan komposisi bakteri LB dan ST 2:1

Tabel 2. Hasil pengujian pengaruh variasi kombinasi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada yogurt yang difortifikasi buah lakum terhadap pH pada berbagai masa penyimpanan

Formula	Nilai pH				
	H0	H7	H14	H21	H28
Plain 1:1	3,99±0,02 <sup>nd</sup>	4,03±0,06 <sup>fb</sup>	4,23±0,06 <sup>fa</sup>	4,57±0,06 <sup>fc</sup>	4,83±0,06 <sup>fe</sup>
Plain 1:2	4,02±0,02 <sup>ed</sup>	4,01±0,11 <sup>eb</sup>	3,93±0,06 <sup>ea</sup>	4,21±0,02 <sup>ec</sup>	4,31±0,01 <sup>ee</sup>
Plain 2:1	3,94±0,04 <sup>cd</sup>	3,92±0,04 <sup>eb</sup>	3,71±0,01 <sup>ca</sup>	3,51±0,02 <sup>cc</sup>	3,89±0,02 <sup>ce</sup>
Lakum 1:1	3,81±0,01 <sup>bd</sup>	3,69±0,01 <sup>db</sup>	3,77±0,06 <sup>da</sup>	3,87±0,06 <sup>dc</sup>	4,05±0,05 <sup>de</sup>
Lakum 1:2	3,71±0,01 <sup>bd</sup>	3,52±0,03 <sup>bb</sup>	3,41±0,01 <sup>ba</sup>	3,61±0,02 <sup>bc</sup>	3,76±0,03 <sup>be</sup>
Lakum 2:1	3,65±0,02 <sup>ad</sup>	3,51±0,01 <sup>ab</sup>	3,41±0,01 <sup>aa</sup>	3,31±0,01 <sup>ac</sup>	3,53±0,05 <sup>ae</sup>

11 Keterangan: Huruf kecil (a-f) <sup>superscript</sup> yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan variasi bakteri berpengaruh signifikan nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap nilai pH, sedangkan huruf kecil yang sama menunjukkan variasi bakteri tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap nilai pH.

laktat) meningkat yang menyebabkan keasaman juga meningkat (Chandan, 2014).

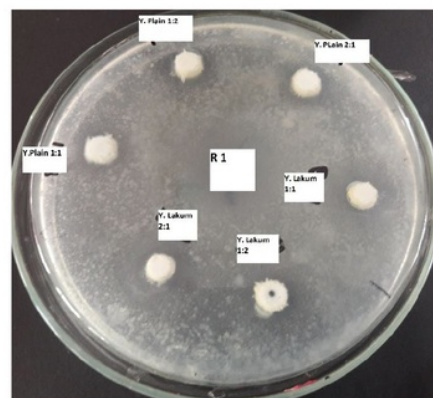
#### Total Antosianin Ekstrak Lakum

Pengukuran total antosianin menggunakan metode pH differential (Jie et al., 2013). Hasil uji total antosianin ekstrak lakum 7,5% pada hari pertama adalah sebesar 61,73 mg/L. Selama penyimpanan, total antosianin dari ekstrak mengalami penurunan kadar. Hal ini karena terjadinya degradasi sifat antosianin yang sangat tergantung pada oksigen, enzim, cahaya, lingkungan, suhu dan pH (Andarwulan & Faradila, 2012). Variasi komposisi bakteri berpengaruh secara signifikan terhadap kadar antosianin dalam yogurt. Demikian pula selama penyimpanan, terjadi perubahan yang signifikan terhadap kadar antosianin yang dapat dilihat pada Tabel 4. Penghitungan total antosianin pada ekstrak buah lakum pada penelitian ini tidak dikondisikan pada lingkungan dengan pH rendah, dengan pemberian larutan alkali, atau dengan penambahan zat oksidator. Hal ini merupakan faktor penyebab terjadinya penurunan total antosianin pada ekstrak lakum selama penyimpanan. Kadar antosianin tertinggi terdapat pada yogurt den 34 komposisi *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* 2:1. Hal ini disebabkan oleh aktivitas bakteri asam laktat yang menyebabkan pH rendah dan keasaman tinggi. Ini memberikan lingkungan yang baik untuk penyimpanan

antosianin dengan pH lingkungan yang rendah sehingga antosianin cukup stabil pada formula 2:1.

#### Daya Hambat Terhadap *E. coli*

Pengujian daya hambat formula yogurt terhadap bakteri *E. coli* dilakukan dengan menggunakan metode sumuran. Diameter daya hambat (Gambar 3) berkisar antara 2,3-3,4 mm. Daya hambat terbesar dan yang memberikan perbedaan signifikan adalah formula yogurt 2:1 tanpa ekstrak lakum. Pengaruh lama penyimpanan

Gambar 3. Diameter daya hambat yogurt terhadap *E. coli*

**Tabel 3. Hasil pengujian pengaruh variasi kombinasi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada yogurt yang difortifikasi buah lakum terhadap total asam pada berbagai masa penyimpanan**

Formula	Total asam (%)				
	H0	H7	H14	H21	H28
Plain 1:1	0,705±0,003 <sup>ad</sup>	0,708±0,007 <sup>ac</sup>	0,682±0,002 <sup>aA</sup>	0,663±0,002 <sup>aB</sup>	0,636±0,002 <sup>aE</sup>
Plain 1:2	0,746±0,009 <sup>bd</sup>	0,750±0,003 <sup>bc</sup>	0,772±0,003 <sup>bA</sup>	0,750±0,002 <sup>bB</sup>	0,708±0,002 <sup>bE</sup>
Plain 2:1	0,768±0,002 <sup>cd</sup>	0,773±0,01 <sup>dc</sup>	0,815±0,002 <sup>dA</sup>	0,831±0,002 <sup>dB</sup>	0,777±0,009 <sup>dE</sup>
Y. Lakum 1:1	0,773±0,006 <sup>cd</sup>	0,770±0,01 <sup>cc</sup>	0,768±0,002 <sup>eA</sup>	0,764±0,003 <sup>eB</sup>	0,731±0,002 <sup>eE</sup>
Y. Lakum 1:2	0,792±0,002 <sup>cd</sup>	0,804±0,002 <sup>ec</sup>	0,847±0,002 <sup>eA</sup>	0,797±0,003 <sup>eB</sup>	0,770±0,003 <sup>eE</sup>
Y. Lakum 2:1	0,809±0,007 <sup>cd</sup>	0,824±0,01 <sup>fc</sup>	0,866±0,004 <sup>fA</sup>	0,886±0,003 <sup>fB</sup>	0,836±0,003 <sup>fE</sup>

Keterangan: Huruf kecil (a-f) *superscript* yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan variasi bakteri berpen<sup>23</sup> sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap kadar total asam, sedangkan huruf kecil yang sama menunjukkan variasi bakteri tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap kadar total asam.

Huruf kapital (A-F) *superscript* yang berbeda dalam satu baris menunjukkan lama pen<sup>3</sup> sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap kadar total asam, sedangkan huruf kapital yang sama menunjukkan lama penyimpanan tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap kadar total asam.

**Tabel 4. Hasil pengujian pengaruh variasi kombinasi starter bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada yogurt yang difortifikasi buah lakum terhadap total antosianin pada berbagai masa penyimpanan**

Formula	Total antosianin (mg/L)				
	H0	H7	H14	H21	H28
Ekstrak Lakum 7,5%	61,73±1,13 <sup>c</sup>	56,00±1,60 <sup>d</sup>	46,90±1,62 <sup>c</sup>	36,93±0,08 <sup>b</sup>	28,92±0,63 <sup>a</sup>
Y. Lakum 1:1	46,17±1,4 <sup>bE</sup>	42,94±0,2 <sup>bd</sup>	40,36±1,6 <sup>bc</sup>	32,23±3,6 <sup>bB</sup>	26,83±2,5 <sup>bA</sup>
Y. Lakum 1:2	35,87±1,4 <sup>aE</sup>	31,28±0,8 <sup>ad</sup>	30,84±0,5 <sup>ac</sup>	23,66±0,9 <sup>aB</sup>	21,12±0,9 <sup>aA</sup>
Y. Lakum 2:1	50,51±0,2 <sup>cd</sup>	45,20±0,7 <sup>cd</sup>	41,86±0,1 <sup>cc</sup>	36,18±2,6 <sup>cb</sup>	30,98±1,5 <sup>ca</sup>

Keterangan: Huruf kecil (a-c) *superscript* yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan vari<sup>1</sup> bakteri berpengaruh sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap total antosianin ekstrak lakum, sedangkan huruf kecil yang sama menunjukkan variasi bakteri tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap total<sup>3</sup> osianin ekstrak lakum.

Huruf kapital (A-F) *superscript* yang berbeda dalam satu baris menunjukkan lama pen<sup>13</sup> sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap total antosianin ekstrak lakum, sedangkan huruf kapital yang sama menunjukkan lama penyimpanan tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap total antosianin.

terhadap daya hambat dapat dilihat pada Tabel 5. Selama penyimpanan, tidak terjadi<sup>30</sup> ubahan yang signifikan terhadap daya hambat yogurt pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21. Pada Tabel 5, terlihat pada hari ke-7 bahwa rata-rata formula memberikan peningkatan daya hambat dan mulai terjadi penurunan pada hari<sup>20-21</sup>. Menurut Akpinar et al (2011), adanya metabolit yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, seperti asam laktat, hidrogen peroksida dan bakteriosin, diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. *L. bulgaricus* menghasilkan metabolit berupa asam laktat, hidr<sup>33</sup> peroksida dan bakteriosin. Sifat asam laktat adalah mudah larut dalam air sehingga dapat dengan mudah berpenetrasi ke dalam sel bakteri. Ini akan merusak membran luar bakteri Gram negatif dan menyebabkan bakteriosin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan antimikroba lain dapat masuk ke dalam membran sitoplasma sehingga dapat menghambat bakteri Gram negatif (Alokomi et al., 2000). Jumlah *L. bulgaricus* yang banyak juga

menyebabkan pH menjadi asam, sedangkan bakteri *E. coli* tidak tahan terhadap suasana asam. Menurut Guraya et al (1998), bakteri Gram negatif tidak tahan terhadap lingkungan asam. Hal ini dapat dilihat bahwa naiknya daya hambat bakteri sejalan dengan turunnya nilai pH dan meningkatnya keasaman.

## KESIMPULAN

Yogurt yang terfortifikasi ekstrak buah lakum (*Cayratia trifolia* (L.) dengan variasi *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* 2:1 memberikan stabilitas yang baik selama penyimpanan dengan nilai keasaman yang meningkat dan pH yang turun. Hasil analisis antosianin dalam yogurt selama penyimpanan menu<sup>11</sup> kan bahwa kadar antosianin mengalami penurunan. Pada pengujian daya hambat terhadap bakteri *E. coli*, yogurt plain (tanpa ekstrak buah lakum) dengan kombinasi *L. bulgaricus*



**Tabel 5. Hasil pengujian pengaruh variasi kombinasi starter bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada yogurt yang difortifikasi buah lakum terhadap daya hambat pada berbagai masa penyimpanan**

Formula	Diameter daya hambat (mm)				
	H0	H7	H14	H21	H28
plain 1:1	2,8±0,5 <sup>aB</sup>	3,0±1,0 <sup>aC</sup>	3,0±0,0 <sup>aC</sup>	3,2±0,4 <sup>aC</sup>	2,3±0,6 <sup>aA</sup>
plain 1:2	3,1±0,5 <sup>cB</sup>	3,7±0,6 <sup>cC</sup>	3,7±0,3 <sup>cC</sup>	3,3±0,6 <sup>cC</sup>	2,7±0,3 <sup>cA</sup>
plain 2:1	3,4±0,4 <sup>cB</sup>	3,8±0,8 <sup>cC</sup>	3,7±0,6 <sup>cC</sup>	3,8±0,3 <sup>cC</sup>	2,3±0,2 <sup>cA</sup>
Y Lakum 1:1	2,3±0,1 <sup>aB</sup>	3,3±0,6 <sup>aC</sup>	2,8±0,6 <sup>aC</sup>	2,3±0,6 <sup>aC</sup>	1,8±0,4 <sup>aA</sup>
Y Lakum 1:2	2,3±0,6 <sup>aB</sup>	3,0±0,0 <sup>aC</sup>	3,7±0,3 <sup>aC</sup>	3,5±0,5 <sup>aC</sup>	2,1±0,2 <sup>aA</sup>
Y Lakum 2:1	3,0±1,0 <sup>bB</sup>	3,7±0,4 <sup>bC</sup>	3,8±0,3 <sup>bC</sup>	3,2±0,2 <sup>bC</sup>	2,3±0,6 <sup>bA</sup>

1 terangan: Huruf kecil (a-f) *superscript* yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan variasi bakteri berpengaruh sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap daya hambat, sedangkan huruf kecil yang sama menunjukkan variasi bakteri tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap daya hambat. Huruf kapital (A-F) *superscript* yang berbeda dalam satu baris menunjukkan lama penyimpanan 13 pengaruh sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap daya hambat, sedangkan huruf kapital yang sama menunjukkan lama penyimpanan tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap daya hambat.

dan *S. thermophilus* 2:1 memberikan daya hambat yang paling tinggi. Penelitian lebih lanjut mengenai parameter kualitas yogurt, seperti viabilitas bakteri asam laktat dan kadar laktosa, serta pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen lain, misalnya *Staphylococcus aureus*, perlu dilakukan di masa mendatang.

## 2 UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Akademi Farmasi Yai Pontianak atas dukungan dan dana selama penelitian. Penulis juga menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada Ibu Nurkhasanah dan Ibu Ika Dyah atas dukungan moral dan material sehingga penelitian ini berjalan lancar.

## DAFTAR ACUAN

- 10 Akpinar, A., Yerlikaya, A. & Kilic, S. (2011). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strain isolated from Turkish homemade yoghurts. *African Journal of Microbiology Research*, 5(6), 675-682
- 14 Alokomi, H.L., Skytta, E. & Sarella, M. (2000). Lactic acid permeabilizes Gram negative bacteria by disrupting outer membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 2001-2005
- 6 Andarwulan, N. & Faradilla, R.H.F. (2012). *Pewarna Alami Untuk Pangan*, (SEAFast) Center, Institut Pertanian Bogor
- 9 Association of Official Analytical Chemist (AOAC). (1995). *Official Methods of Analytical Chemist. Vol. 1A*. AOAC, Inc., Washington
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). (2005). Ketentuan Pokok Pangan Fungsional., *PerKa BPOM Nomor HK 00.05.52.0685*
- 2 Buckle, K.A., Edward, R.A., Fleet, G.H. & Wotton, M. (2007). *Ilmu Pangan*, diterjemahkan oleh Pomomo, H dan Adiono, Universitas Indonesia Press. Jakarta
- 9 Chandan, R.C. & Shahani, K.M. (1993). *Yogurt. In: Y. H. Hui. Dairy Science and Technology Handbook. 2. Product Manufacturing*, VCH Pub. Inc., USA
- 7 Guraya, R., Frank, J.F. & Hasan, A.N. (1998). Effectiveness of salt, pH and diacetyl as inhibitors of *Escherichia coli* 0157:H7 in dairy foods stored at refrigeration temperatures. *Journal of Food Protection*, 61: 1098-1102.
- 22 Helferich, W. & Westhoff, D. (1980). *All About Yogurt*, Englewood Cliff, New Jersey
- 4 Jung, J., Paik, H.D., Yoon, H.J., Jang, H.J., Jeewanthi, R.K.C., Jee, H.S., Li, X., Lee, N.-K. & Lee, S.K. (2016). Physicochemical characteristics and antioxidant capacity in yogurt fortified with red ginseng extract. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(3): 412-420
- Jie, L., Xiao-ding, L., Yun, Z., Zheng-dong, Z., Zhi-ya, Q., Meng, L., Shao-hua, Z., Shou, L., Wang, M. & Lu, Q. (2013). Identification and thermal stability of purple-fleshed sweet potato anthocyanins in aqueous solutions with various pH values and fruit juices, *Food Chem.*, 136: 1429-1434



- Kumar, D., Gupta, J., Kumar, S., Arya, R., Kumar, T. & Gupta, A. (2012). Pharmacognostic evaluation of *Cayratia trifolia* (Linn). leaf. *Asian Pasific Journal of Topical Biomedecine*, 2: 6-10
- Mitchel, L.R. & Sandine, W.E. (1984). Associative growth and differential enumeration of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus*. *Journal Food Potection*, 47: 245-248
- Neliyanti & Idiawati, N. (2014). Ekstraksi dan uji stabilitas zat warna alami dari buah lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin). *J. Kim. Khatulistiwa*, 3(2): 86-93
- Sah, B.N.P., Vasiljevik, T., McKenchnie, S. & Donkron, O.N. (2016). Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre rich pineapple peel powder during refrigerated storage. *LWT Food Science and Technology*, 65: 978-986
- Sowmya, S., Perumal, P.C., Anusooriya, P., Vidya, B., Pratibha, P., Malarvizhi, D. & Gopalakrihnam, V.K. (2015). Comparative preliminary phytochemical analysis various different parts (stem, leaf and fruit) of *Cayratia trifolia* (L.). *Indo-Am. J. Pharm. Res.*, 5: 218-23
- Standar Nasional Indonesia (SNI). (1992). *SNI : Nomor 01-2981-1992 Tentang Yogurt*. Jakarta
- Inti, I., Kusumaningtyas, R.W. & Illanigtyas, F. (2007). Uji sifat probiotik bakteri asam laktat sebagai kandidat bahan pangan fungsional. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 18(2)
- Trachoo, N. (2002). Review article: Yogurt: The fermented milk, *Songklanakrin J. Sci. Technol.*, 24(4) Oct-Des
- Umela, S. (2017). Variasi konsentrasi starter *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* terhadap karakteristik yogurt jagung pulut., *Journal of Argitech. Science*, 1 (2) Nov
- Winarno. F.G., & Winarno, W. (2017). *Mikrobioma Usus*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

# Optimasi Komposisi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada Yogurt Terfortifikasi Buah Lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin) sebagai Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

ORIGINALITY REPORT

17%

SIMILARITY INDEX

## PRIMARY SOURCES

1	<a href="https://pt.scribd.com">pt.scribd.com</a> Internet	72 words — 2%
2	<a href="https://www.scribd.com">www.scribd.com</a> Internet	71 words — 2%
3	<a href="https://fr.scribd.com">fr.scribd.com</a> Internet	49 words — 1%
4	Carina P. Van Nieuwenhove, Andrea Moyano, Pilar Castro-Gómez, Javier Fontecha et al. "Comparative study of pomegranate and jacaranda seeds as functional components for the conjugated linolenic acid enrichment of yogurt", LWT, 2019 Crossref	47 words — 1%
5	<a href="https://journal.unpad.ac.id">journal.unpad.ac.id</a> Internet	43 words — 1%
6	<a href="https://eprints.umm.ac.id">eprints.umm.ac.id</a> Internet	40 words — 1%
7	<a href="https://ephysician.ir">ephysician.ir</a> Internet	33 words — 1%
8	<a href="https://jurnal.poltekba.ac.id">jurnal.poltekba.ac.id</a> Internet	32 words — 1%

9	<a href="http://jatp.ift.or.id">jatp.ift.or.id</a> Internet	31 words — 1%
10	<a href="http://arastirma.tarim.gov.tr">arastirma.tarim.gov.tr</a> Internet	31 words — 1%
11	<a href="http://repository.unhas.ac.id">repository.unhas.ac.id</a> Internet	30 words — 1%
12	<a href="http://ejournal.stifar-riau.ac.id">ejournal.stifar-riau.ac.id</a> Internet	24 words — 1%
13	<a href="http://repository.ipb.ac.id">repository.ipb.ac.id</a> Internet	22 words — < 1%
14	<a href="http://onlinelibrary.wiley.com">onlinelibrary.wiley.com</a> Internet	18 words — < 1%
15	<a href="http://id.123dok.com">id.123dok.com</a> Internet	17 words — < 1%
16	<a href="http://orenzpunya.wordpress.com">orenzpunya.wordpress.com</a> Internet	17 words — < 1%
17	<a href="http://adoc.tips">adoc.tips</a> Internet	13 words — < 1%
18	<a href="http://oaji.net">oaji.net</a> Internet	12 words — < 1%
19	<a href="http://pengetahuanpanganpertanian.blogspot.com">pengetahuanpanganpertanian.blogspot.com</a> Internet	12 words — < 1%
20	<a href="http://duniakefir.blogspot.com">duniakefir.blogspot.com</a> Internet	11 words — < 1%
21	Xianliang Lei, Xiangfei Kong, Qian Zhang, Weiqiang Zhang, Huixiong Li. "Effect of Materials on the Heat Transfer to Supercritical Pressure Fluids", Volume 2: Heat Transfer Equipment; Heat Transfer in Multiphase Systems; Heat	10 words — < 1%



Transfer Under Extreme Conditions; Nanoscale Transport Phenomena; Theory and Fundamental Research in Heat Transfer; Thermophysical Properties; Transport Phenomena in Materials Processing and Manufacturing, 2017

Crossref

- 
- |    |   |                 |
|----|---|-----------------|
| 22 | <a href="http://vdocuments.mx">vdocuments.mx</a><br><small>Internet</small> | 10 words — < 1% |
|----|---|-----------------|
- 
- |    |   |                 |
|----|---|-----------------|
| 23 | <a href="http://repositori.unud.ac.id">repositori.unud.ac.id</a><br><small>Internet</small> | 10 words — < 1% |
|----|---|-----------------|
- 
- |    |   |                 |
|----|---|-----------------|
| 24 | <a href="http://repository.usu.ac.id">repository.usu.ac.id</a><br><small>Internet</small> | 10 words — < 1% |
|----|---|-----------------|
- 
- |    |  |                 |
|----|--|-----------------|
| 25 | <a href="#">Zulkarni R, Sanubari Rela Tobat, Sonia Febri Aulia.<br/>"PERILAKU MASYARAKAT DALAM<br/>SWAMEDIKASI OBAT TRADISIONAL DAN<br/>MODERN DI KELURAHAN SAPIRAN<br/>KECAMATAN AUR BIRUGO TIGO BALEH KOTA BUKITTINGGI",<br/>Jurnal Kesehatan, 2019</a><br><small>Crossref</small> | 10 words — < 1% |
|----|--|-----------------|
- 
- |    |   |                 |
|----|---|-----------------|
| 26 | <a href="http://text-id.123dok.com">text-id.123dok.com</a><br><small>Internet</small> | 10 words — < 1% |
|----|---|-----------------|
- 
- |    |   |                 |
|----|---|-----------------|
| 27 | <a href="http://id.scribd.com">id.scribd.com</a><br><small>Internet</small> | 10 words — < 1% |
|----|---|-----------------|
- 
- |    |   |                 |
|----|---|-----------------|
| 28 | <a href="http://eprints.undip.ac.id">eprints.undip.ac.id</a><br><small>Internet</small> | 10 words — < 1% |
|----|---|-----------------|
- 
- |    |   |                 |
|----|---|-----------------|
| 29 | <a href="http://journal.uny.ac.id">journal.uny.ac.id</a><br><small>Internet</small> | 10 words — < 1% |
|----|---|-----------------|
- 
- |    |   |                |
|----|---|----------------|
| 30 | <a href="http://bozriver.blogspot.com">bozriver.blogspot.com</a><br><small>Internet</small> | 9 words — < 1% |
|----|---|----------------|
- 
- |    |   |                |
|----|---|----------------|
| 31 | <a href="http://ml.scribd.com">ml.scribd.com</a><br><small>Internet</small> | 9 words — < 1% |
|----|---|----------------|
- 
- |    |  |  |
|----|--|--|
| 32 | <a href="http://garuda.ristekdikti.go.id">garuda.ristekdikti.go.id</a> |  |
|----|--|--|

Internet

9 words — < 1%

---

33 [www.distributorsarangwalet.com](http://www.distributorsarangwalet.com)  
Internet

8 words — < 1%

---

34 [docplayer.info](http://docplayer.info)  
Internet

8 words — < 1%

---

35 [etheses.uin-malang.ac.id](http://etheses.uin-malang.ac.id)  
Internet

8 words — < 1%

---

36 [media.neliti.com](http://media.neliti.com)  
Internet

8 words — < 1%

---

37 [indonesianjpharm.farmasi.ugm.ac.id](http://indonesianjpharm.farmasi.ugm.ac.id)  
Internet

8 words — < 1%

---

EXCLUDE QUOTES

OFF

EXCLUDE MATCHES

< 7 WORDS

EXCLUDE  
BIBLIOGRAPHY

ON